

**UJI AKTIVITAS ANTIMUTAGENIK EKSTRAK METANOL RIMPANG
TEMU GIRING (*CURCUMA HEYNEANA*) TERHADAP
SEL ERITROSIT MENCIT SECARA *IN VIVO***

SKRIPSI

Diajukan kepada Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Universitas Negeri Yogyakarta untuk Memenuhi Sebagian
Persyaratan Guna Memperoleh Gelar Sarjana Sains
Bidang Kimia



Oleh:
SYARIFAH ICHSHANTI
NIM : 08307141011

PROGRAM STUDI KIMIA
JURUSAN PENDIDIKAN KIMIA
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS NEGERI YOGYAKARTA
2013

PERSETUJUAN

Skripsi ini Telah Memenuhi Persyaratan
dan Siap untuk Diuji

Disetujui pada tanggal
20 Januari 2013.
.....

Pembimbing Utama



(Retno Arianingrum, M.Si.)
NIP. 196812151998022001

Pembimbing Pendamping



(Prof. Dr. Sri Atun)
NIP. 196510121990012001

Koordinator Tugas Akhir Skripsi
Program Studi Kimia



(Dr. Endang Widjajanti LFX)
NIP. 196212031986012001

PENGESAHAN

UJI AKTIVITAS ANTIMUTAGENIK EKSTRAK METANOL RIMPANG TEMU GIRING (*CURCUMA HEYNEANA*) TERHADAP SEL ERITROSIT MENCIT SECARA *IN VIVO*

Yang dipersiapkan dan disusun oleh:

Syarifah Ichshanti
NIM. 08307141011

Telah dipertahankan di depan Tim Penguji Skripsi
Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Universitas Negeri Yogyakarta
Pada tanggal 28 Januari 2013 dan dinyatakan
telah memenuhi syarat guna memperoleh
gelar Sarjana Sains
Bidang Kimia

Susunan Tim Penguji

Nama Lengkap

Ketua Penguji : Retno Arianingrum, M.Si
NIP. 196812151998022001
Sekretaris : Prof. Dr. Sri Atun
NIP. 196510121990012001
Penguji Utama : Dr. Rer. Nat. Senam
NIP. 196703061992031001
Penguji Pendamping : Sunarto, M.Si
NIP. 196106081988121001

Tanda Tangan


.....

.....

.....

Yogyakarta, 28 Januari 2013
Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Universitas Negeri Yogyakarta
Dekan

Dr. Hartono
NIP. 196203291987021002

PERNYATAAN

Yang bertanda tangan di bawah ini saya :

Nama : Syarifah Ichshanti
NIM : 08307141011
Program Studi : Kimia
Fakultas : FMIPA-UNY
Judul Penelitian : Uji Aktivitas Antimutagenik Ekstrak Metanol
Rimpang Temu Giring (*Curcuma Heyneana*)
Terhadap Sel Eritrosit Mencit secara *In Vivo*

Dengan ini saya menyatakan bahwa skripsi ini benar-benar karya saya sendiri. Sepanjang pengetahuan saya tidak terdapat karya atau pendapat yang ditulis atau diterbitkan orang lain kecuali sebagai acuan atau kutipan dengan mengikuti tata penulisan karya ilmiah yang telah lazim. Tanda tangan dosen penguji yang tertera dalam halaman pengesahan adalah asli. Jika tidak asli, saya siap menerima sanksi ditunda yudisium pada periode berikutnya.

Yogyakarta, 18 Januari 2013.

Yang menyatakan,



Syarifah Ichshanti
NIM. 08307141011

MOTTO

“Sesungguhnya sesudah kesulitan itu ada kemudahan. Maka apabila kamu telah selesai (dari satu urusan) kerjakanlah dengan sungguh-sungguh urusan yang lain. Dan hanya kepada Tuhanmulah hendaknya kamu berharap”

(Q.S. Al-Insyiroh: 5-8)

“Keberhasilan yang kita dapatkan akan selalu sebanding dengan usaha yang kita lakukan, jadi usaha yang maksimal akan memberi hasil yang maksimal pula”

“Indahnya hidup bukanlah dari seberapa banyak orang mengenal kita,
Tetapi seberapa banyak orang yang bahagia
berkenalan dengan kita”

“Allah-lah Sang Maha memberi, maka segala nikmat dan anugerah yang ada pada kita adalah bukti atas semua kebesaran-Nya yang harus diyakini dan disyukuri”

HALAMAN PERSEMBAHAN

Allah SWT

Terimakasih atas nikmat, anugerah, dan karunia yang telah diberikan.

Dosen pembimbing, penguji, Bu Mona, dan LPPT UGM

Terimakasih atas bimbingan dan masukan selama ini.

Bapak, ibu, kakak, adek dan keluarga besar

Terimakasih atas dukungan selama ini, tanpa kalian aku tak kan bisa menyelesaikan skripsi ini.

Sahabat-sahabatku dan masku

Terimakasih sahabat-sahabatku selama 4 tahun lebih kalian selalu ada buatku, dan terimakasih juga buat masku atas dukungannya selama ini dan selalu ada buatku, menemani hari-hariku.

KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis panjatkan ke hadirat Allah SWT yang telah melimpahkan rahmat dan hidayah-Nya, sehingga pelaksanaan dan penyusunan skripsi dengan judul “ Uji Aktivitas Antimutagenik Ekstrak Metanol Rimpang Temu Giring (*Curcuma Heyneana*) terhadap Sel Eritrosit Mencit secara *In Vivo* ” ini dapat diselesaikan dengan lancar. Dalam penelitian maupun pada saat penyusunan skripsi, penulis telah banyak mendapatkan wawasan dan pengetahuan di bidang kimia, terutama bidang biokimia.

Dalam pelaksanaan penelitian, baik pada saat persiapan, pelaksanaan penelitian hingga penyusunan laporan ini, banyak pihak yang memberikan bimbingan, arahan, bantuan, dan motivasi. Oleh karena itu, maka pada kesempatan ini penulis mengucapkan terimakasih kepada:

1. Retno Arianingrum M.Si selaku Dosen Pembimbing Utama.
2. Prof. Dr. Sri Atun selaku Dosen Pembimbing Pendamping.
3. Dr. rer. nat. Senam dan Bapak Sunarto M.Si selaku Dosen Penguji.
4. Dr. Hartono selaku Dekan FMIPA Universitas Negeri Yogyakarta.
5. Dr. Phill Hari Sutrisno selaku Ketua Jurusan Pendidikan Kimia FMIPA Universitas Negeri Yogyakarta.
6. Dr. Endang Widjajanti LFX selaku Koordinator Tugas Akhir Skripsi Kimia.
7. Dyah Purwaningsih, M.Si selaku Dosen Pembimbing Akademik.
8. drh. Claude Mona Airin, M.P selaku Dosen Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Gadjah Mada yang telah memberikan bantuan dan bimbingan.

9. Seluruh dosen dan karyawan Jurusan Pendidikan Kimia FMIPA UNY yangtelah memberikan banyak bantuan selama kuliah dan penelitian.
10. Semua pihak yang telah memberikan bantuan dari sebelum penelitian hingga terselesaikannya skripsi ini yang tidak bisa disebutkan satu persatu.

Penulis menyadari akan adanya kekurangan dalam penyusunan skripsi ini, oleh karena itu penulis mengharapkan masukan berupa kritik dan saran yang bersifat membangun guna kesempurnaan skripsi ini. Akhirnya penulis berharap semoga skripsi ini dapat memberikan manfaat bagi pembaca dan almamater.

Yogyakarta, 4 Februari 2013

Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL.....	i
HALAMAN PERSETUJUAN.....	ii
HALAMAN PENGESAHAN.....	iii
HALAMAN PERYATAAN.....	iv
HALAMAN MOTTO.....	v
HALAMAN PERSEMBAHAN.....	vi
KATA PENGANTAR.....	vii
DAFTAR ISI.....	ix
DAFTAR TABEL.....	xii
DAFTAR GAMBAR.....	xiii
DAFTAR LAMPIRAN.....	xiv
DAFTAR ISTILAH.....	xv
ABSTRAK.....	xvii
ABSTRACT.....	xviii
BAB I. PENDAHULUAN	
A. Latar Belakang Masalah.....	1
B. Identifikasi Masalah.....	3
C. Pembatasan Masalah.....	3
D. Perumusan Masalah.....	4
E. Tujuan Penelitian.....	4
F. Manfaat Penelitian.....	5

BAB II. KAJIAN PUSTAKA

A. Deskripsi Teori

1. Temu Giring (*Curcuma heyneana*)..... 6
2. Mutasi..... 10
3. Aktivitas Antimutagenik..... 15

B. Penelitian yang Relevan..... 16

C. Kerangka Berpikir..... 17

BAB III. METODE PENELITIAN

A. Subyek dan Obyek Penelitian

1. Subyek Penelitian 18
2. Obyek Penelitian..... 18

B. Variabel Penelitian

1. Variabel Bebas 18
2. Variabel Terikat..... 18

C. Alat dan Bahan

1. Alat 19
2. Bahan..... 19

D. Metode Pengumpulan Data..... 20

E. Prosedur Penelitian 22

1. Pembuatan Bahan Uji

- a. Pembuatan Ekstrak Metanol 22
- b. Pembuatan Larutan Na-CMC 1% (b/v) 23
- c. Pembuatan Siklofosamid 50 mg/kg bb 23

d. Pembuatan Sediaan Bahan Uji	23
2. Perlakuan Pada Hewan Uji.....	23
3. Pembuatan Preparat Apus Sumsum Tulang Mencit.....	26
F. Teknik Analisis Data.....	27
BAB IV. HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN	
A. Hasil Penelitian	29
B. Pembahasan.....	30
BAB V. KESIMPULAN DAN SARAN	
A. Kesimpulan.....	40
B. Saran.....	40
DAFTAR PUSTAKA.....	41
LAMPIRAN.....	43

DAFTAR TABEL

Tabel 1.	Pembagian Kelompok Perlakuan Terhadap Hewan Uji.....	21
Tabel 2.	Perlakuan Pada Hewan Uji.....	25
Tabel 3.	Rerata Jumlah MNPCE Pada Preparat Apus Sumsum Tulang Mencit dan Persentase Aktivitas Ekstrak Metanol Rimpang Temu Giring.....	29

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1.	Rimpang Temu Giring.....	7
Gambar 2.	Senyawa-senyawa Kimia Yang Terdapat Dalam Rimpang Temu Giring.....	10
Gambar 3.	Proses Pembentukan Mikronukleus dari Kromosom yang Tertinggal Pada Tahap Anafase.....	31
Gambar 4.	Mekanisme Siklofosamid Mengalkilasi Sel.....	33
Gambar 5.	Mekanisme Alkilasi DNA Guanin.....	34
Gambar 6.	Gambar Mikroskopis MNPCE Kelompok I.....	35
Gambar 7.	Gambar Mikroskopis MNPCE Kelompok II.....	36
Gambar 8.	Gambar Mikroskopis MNPCE Kelompok III.....	36
Gambar 9.	Gambar Mikroskopis MNPCE Kelompok IV.....	38
Gambar 10.	Gambar Mikroskopis MNPCE Kelompok V.....	38

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran I	Pembuatan Bahan Uji.....	43
Lampiran II	Pembuatan Preparat Apus Sumsum Tulang.....	45
Lampiran III	Tabel Berat Badan Mencit dan Banyaknya Bahan Uji yang Diberikan.....	46
Lampiran IV	Tabel Jumlah MNPCE.....	47
Lampiran V	Perhitungan Persentase Aktivitas Antimutagenik.....	48
Lampiran VI	Foto Dokumentasi.....	49

DAFTAR ISTILAH

1. Ad-libitum : Cara pemberian minum pada hewan uji dengan memasukkan air ke dalam suatu botol dengan penutup khusus. Botol kemudian diberikan dengan posisi terbalik dan air hanya keluar jika dijilat oleh hewan uji.
2. Alel : Satu atau lebih bentuk alternatif gen yang menempati lokus yang sama pada suatu kromosom.
3. Alkilasi : Penambahan jumlah atom dalam molekul menjadi molekul yang lebih panjang.
4. Antiinflamasi : Obat yang dapat menghilangkan radang, yang disebabkan bukan karena mikroorganisme (non infeksi).
5. Delesi : Mutasi kromosom dimana sebagian dari kromosom menghilang.
6. Embrio : Tahapan awal dari pertumbuhan vertebrata (hewan bertulang punggung).
7. Fenotip : Penampakan sifat sebagai hasil interaksi antara genotip dengan lingkungan.
8. Fiksasi : Proses perubahan zat-zat dalam sel menjadi komponen yang tidak larut. Bertujuan untuk menghentikan proses metabolisme secara cepat, mencegah kerusakan jaringan, mengawetkan komponen-komponen sitologis dan histologis.
9. Gen : Unit pewarisan sifat bagi organisme hidup.
10. Insersi : Peristiwa penambahan satu basa nitrogen pada gen.
11. Intraperitoneal : Jalur pemberian kepada hewan uji secara injeksi melalui rongga perut.
12. Kodon : Deret nukleotida pada mRNA yang terdiri atas kombinasi tiga nukleotida berurutan, yang menjadi

suatu asam amino tertentu.

- 13. Kromosom : Suatu struktur makromolekul yang berisi DNA dimanainformasi genetik dalam sel disimpan.
- 14. Lokus : Tempat (lokasi) dimana suatu gen berada.
- 15. Mikronukleus : Fragmen kromosom atau kromosom utuh yang tertinggal dalam sitoplasma selama mitosis.
- 16. Mitosis : Proses pembelahan genom yang telah digandakan oleh sel, kedua sel identik yang dihasilkan oleh pembelahan sel.
- 17. Nukleus : Organel yang ditemukan pada sel eukariotik.
- 18. Peroral : Jalur pemberian kepada hewan uji melalui mulut.
- 19. Sentromer : Daerah konstriksi (lekukan primer) disekitar pertengahan kromosom.
- 20. Sitokrom P450 : Kelompok enzim biotransformasi yang berfungsi sebagai katalis oksidator dalam metabolisme dan eliminasi obat, racun, karsinogen, dan senyawa endogen.

**AKTIVITAS UJI ANTIMUTAGENIK EKSTRAK METANOL
RIMPANG TEMU GIRING (*Curcuma heyneana*) TERHADAP
SEL ERITROSIT MENCIT SECARA *IN VIVO***

Oleh:

**SYARIFAH ICHSHANTI
NIM. 08307141011**

**Pembimbing Utama : Retno Arianingrum, M.Si
Pembimbing Pendamping : Prof.Dr. Sri Atun**

ABSTRAK

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui persentase aktivitas antimutagenik ekstrak metanol rimpang temu giring yang diberi siklofosamid terhadap sel eritrosit mencit.

Penelitian ini dilakukan dengan metode uji mikronukleus dengan memberikan perlakuan pada mencit jantan galur Balb-c yang berumur 6-7 minggu dengan berat berkisar 30-40 g. Perlakuan yang diberikan adalah pemberian ekstrak metanol rimpang temu giring secara *peroral* dan siklofosamid secara *intraperitoneal*. Perlakuan dilakukan selama 2 hari. Kemudian pada hari ke-2, 6 jam setelah pemberian siklofosamid ke-2, semua mencit dikorbankan dengan cara dislokasi leher dan dibedah untuk diambil sumsum tulang dari tulang pahanya. Sumsum tulang selanjutnya dibuat preparat apus untuk diamati jumlah sel eritrosit bermikronukleus (MNPCE). Dosis ekstrak metanol rimpang temu giring yang digunakan adalah 300 dan 600 mg/kg bb. Senyawa toksik yang digunakan sebagai kontrol positif adalah siklofosamid dengan dosis 50 mg/kg bb.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak metanol rimpang temu giring dengan dosis 300 dan 600 mg/kg bb yang diberi siklofosamid dengan dosis 50 mg/kg bb memiliki aktivitas antimutagenik. Persentase aktivitas antimutagenik ekstrak metanol rimpang temu giring pada dosis 300 mg/kg bb dan pada dosis 600 mg/kg bb adalah 95,5%

**ACTIVITY OF TEST OF THE EXTRACT OF ANTIMUTAGENIC
METHANOL OF TEMU GIRING RIZHOME (*Curcuma heyneana*) TO
THE CELL OF ERYTHROCYTES MICE by *IN VIVO***

by :

SYARIFAH ICHSAHANTI

NIM :08307141011

Main Advisor : Retno Arianingrum, M. Si.

Co-Advisor : Prof. Dr. Sri Atun

ABSTRACT

The purpose of this research was conducted to know the percentage antimutagenic activity of the methanol extract from temu giring rizhome.

This research was performed using the method of micronucleous test with the treatment to the male mice of Balb-c groove having the age of 6-7 weeks and the weight of 30-40 g. The treatment was giving the methanol extract of temu giring rizhome *peroral* and cyclophosphamide *intraperitoneal*. The treatment was performed for 2 days. Then, in the second day, 6 hours after the second gift of cyclophosphamide, all mice were sacrificed by conducting the neck dislocation and dissected to the bone marrow taken thighs from the femoral bone. Furthermore, bone marrow smear preparations were made for the observed number of micronucleus polychromatic cells erythrocytes (MNPCE). The used dosage of methanol extract of temu giring rizhome was 300 and 600 mg/kg bw. The toxical compound used as positive control was cyclophosphamide with the dosage of 50 mg/kg bw.

The results showed that the methanol extract of temu giring rizhome with the dosage of 300 and 600 mg/kg bw given by cyclophosphamide with the dosage of 50 mg/kg had an antimutagenic activity. The percentage of the antimutagenic activity in the methanol extract of temu giring rizhome with the dosage of 300 and 600 mg/kg bw was 95.5%.

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang Masalah

Definisi dari obat tradisional adalah obat jadi atau ramuan yang berasal dari tumbuhan, hewan, mineral, atau campuran dari bahan-bahan tersebut yang telah digunakan untuk pengobatan berdasarkan pengalaman (Katno dan S. Pramono, 2008:1). Obat tradisional memiliki kelebihan diantaranya tidak menimbulkan efek samping .

Salah satu tumbuhan yang dipakai oleh masyarakat untuk obat tradisional adalah temu giring. Rimpang dari tumbuhan temu giring digunakan untuk perawatan kecantikan secara tradisional sebagai lulur, mengobati perasaan tidak tenang, obat cacing, menyembuhkan kulit terkelupas dan luka, serta pelangsing tubuh (Fauziah Muhlisah, 2007:56).

Tumbuhan temu giring memiliki hubungan kekerabatan dengan kunyit dan merupakan keluarga temu-temuan (*Zingiberaceae*). Pada penelitian yang sudah dilakukan, ternyata keluarga temu-temuan menunjukkan adanya aktivitas antimutagenik. Kurkumin yang pada umumnya terdapat dalam keluarga temu-temuan memiliki aktivitas antimutagenik (Majeed *et al.*1995:100). . Oleh karena itu pada penelitian ini diteliti lebih lanjut adanya aktivitas antimutagenik pada temu giring. Rimpang pada temu giring mengandung minyak atsiri, tanin, dan kurkumin, sehingga bagian tumbuhan pada temu giring yang diekstraksi adalah pada bagian rimpang. (Slamet Soesilo, dkk. 1986:171).

Aktivitas antimutagenik ditandai dengan adanya mutasi. Umumnya mutasi bersifat merugikan, karena mutasi dapat menyebabkan kanker. Kanker merupakan salah satu penyakit yang terjadi akibat adanya mutasi gen. Penyakit ini ditandai dengan adanya kerusakan dan ketidaknormalan gen yang mengatur pertumbuhan dan diferensiasi sel yang mengakibatkan timbulnya mutasi genetik yang sangat potensial menghasilkan sel kanker. Terjadinya penyakit ini dapat diinduksi oleh faktor lingkungan yang disebut faktor karsinogen. Zat karsinogen dapat berasal dari bahan alam maupun dari hasil sintetis (Tortora dkk, 2001:226).

Penelitian ini bertujuan untuk melakukan uji antimutagenik pada rimpang temu giring dengan menggunakan metode uji mikronukleus. Uji ini dilakukan dengan cara pengamatan secara mikroskopik jumlah sel eritrosit polikromatik bermikronukleus (MNPCE) dari preparat apus sumsum tulang hewan uji yang telah diberi perlakuan dengan ekstrak metanol rimpang temu giring. Hewan uji yang digunakan pada penelitian ini adalah mencit jantan yang berusia 6 sampai 7 minggu dengan berat badan 30 sampai 40 gram. Ekstrak metanol temu giring yang digunakan sebesar 300 mg/kg bb dan 600 mg/kg bb. Kontrol Positif pada penelitian ini yaitu hewan uji yang sumsum tulangnya diinduksi dengan siklofosamid dengan dosis 50 mg/kg. Untuk mengetahui aktivitas antimutagenik ekstrak metanol pada rimpang temu giring, diberikan perlakuan yang lain yaitu dengan cara menginduksi hewan uji dengan

menggunakan siklofosfamid setelah dilakukan pemberian ekstrak. Selanjutnya dilakukan pengamatan secara mikroskopik terhadap jumlah MNPCE dari setiap kelompok perlakuan.

Melalui penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi tentang manfaat senyawa-senyawa yang terkandung di dalam ekstrak rimpang temu giring sebagai senyawa antimutagenik.

B. Identifikasi Masalah

Masalah yang dapat diidentifikasi pada penelitian ini adalah:

1. Spesies tumbuhan temu giring yang diteliti mempengaruhi aktivitas antimutagenik.
2. Bagian tumbuhan yang diekstraksi mempengaruhi aktivitas antimutagenik.
3. Konsentrasi ekstrak temu giring yang digunakan untuk mempengaruhi kerja optimum ekstrak temu giring.
4. Hewan uji yang digunakan pada penelitian mempengaruhi kemudahan dalam pengambilan sumsum tulang yang akan diamati.
5. Metode uji aktivitas antimutagenik yang digunakan mempengaruhi proses pengamatan dan perhitungan pada hasil penelitian

C. Pembatasan Masalah

Mengingat banyaknya masalah yang terkait dengan uji aktivitas antimutagenik ekstrak metanol Rimpang temu giring, maka diperlukan pembatasan masalah sebagai berikut:

1. Spesies tumbuhan *Curcuma* yang digunakan dalam penelitian ini adalah temu giring.
2. Bagian tumbuhan yang digunakan adalah rimpang temu giring.
3. Variasi konsentrasi ekstrak metanol rimpang temu giring yang digunakan adalah 300 dan 600 mg/kg bb mengacu pada penelitian Nur Habibah (2008) .
4. Hewan uji yang digunakan adalah mencit jantan (*Mus musculus*) galur Balb-c yang berusia 6 sampai 7 minggu dengan berat badan 30 sampai 40 gram.
5. Metode yang digunakan untuk uji antimutagenik adalah metode uji MNPCE (*micronucleus polychromatic cell erythrocytes*) mengacu pada penelitian aktivitas antimutagenik dan antioksidan dari Didi J.P dkk (2000).

D. Perumusan Masalah

Berdasarkan pembatasan masalah diatas, maka dapat ditentukan perumusan masalah dalam penelitian ini adalah berapakah persentase aktivitas antimutagenik terhadap mencit yang diberi siklofosamid oleh ekstrak metanol rimpang temu giring.

E. Tujuan Penelitian

Berdasarkan perumusan masalah diatas, maka tujuan dari penelitian ini adalah menghitung persentase aktivitas antimutagenik terhadap

mencit yang diberi siklofosfamid oleh ekstrak metanol rimpang temu giring.

F. Manfaat Penelitian

Manfaat yang dapat diambil dari penelitian ini adalah:

1. Menambah ilmu pengetahuan tentang bioaktivitas senyawa yang terkandung dalam tumbuhan temu giring.
2. Memberikan informasi dan pengetahuan tentang pemanfaatan tumbuhan temu giring, sehingga masyarakat mampu melestarikan tumbuhan tersebut.

BAB II

KAJIAN PUSTAKA

a. Deskripsi Teori

1. Temu Giring (*Curcuma heyneana*)

Zingiberaceae atau dikenal dengan jahe-jahean merupakan famili tumbuhan berbunga yang termasuk tanaman obat aromatik. Tanaman ini memiliki pertumbuhan secara horizontal, serta terdiri dari 47 genus dan 1400 spesies yang tersebar di sepanjang daerah tropik dan subtropik (Mustafa T, Sri Vastava, dan Jensen, 1993:25). Tanaman yang telah lama dimanfaatkan oleh masyarakat Indonesia adalah tanaman temu-temuan dari suku ini.

Salah satu tanaman temu-temuan yang telah lama digunakan sebagai bahan obat-obatan adalah temu giring. Temu giring merupakan salah satu spesies dari famili tumbuhan Zingiberaceae yang memiliki klasifikasi sebagai berikut:

Divisio	: Spermatophyta
Anak division	: Angiospermae
Kelas	: Monocotyledoneae
Bangsa	: Zingiberales
Suku	: Zingiberaceae
Marga	: <i>Curcuma</i>
Jenis	: <i>Curcuma heyneana</i> Val. & V. Zijp

Rimpang temu giring (gambar 1) mempunyai ciri sebagai berikut mempunyai bau khas, rasanya pahit, agak pedas, dan lama-kelamaan menimbulkan rasa tebal. Secara makroskopik bentuk temu giring mempunyai keping pipih, ringan, bentuk hampir bulat sampai jorong atau bulat panjang, kadang bercabang atau berbentuk tidak beraturan, tebal keping antara 1 mm sampai 4 mm, panjang 2 cm sampai 5 cm, lebar 5 mm sampai 4 cm, bagian tepi berombak atau berkeriput, warna kecoklatan, bagian tengah berwarna kuning keputih-putihan, kadang-kadang terdapat pangkal akar, batas korteks dan silinder pusat kadang jelas, korteks sempit dan mempunyai lebar lebih kurang 3 mm, silinder pusat lebar, berkas patahan agak rata, warna kuning keputih-putihan (Slamet Soesilo,dkk.1986:169).



Gambar 1. Rimpang temu giring

Menurut Hembing Wijayakusuma (2006), manfaat dari rimpang temu giring yaitu untuk mengatasi perasaan tidak tenang (cemas), jantung berdebar-debar, cacingan, sembelit, disentri, haid tidak teratur, menambah nafsu makan, meningkatkan stamina, menghaluskan kulit, dan sebagainya.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa perasan rimpang temu giring terhadap mortalitas cacing hati menunjukkan bahwa rimpang temu giring mempunyai kandungan minyak atsiri, tanin, saponin, flavonoid, dan damar (Yulia, 2006: 2).

Rimpang temu giring mengandung minyak atsiri yang jumlahnya tidak kurang dari 1,5 % b/v yang mempunyai daya antimikroba, selain itu juga mempunyai kandungan senyawa berupa kurkumin, tanin, saponin, dan flavonoid (Anonim. 1989: 169-171; Syamsuhidayat dan Hutapea.1991:190-191). Struktur senyawa dari beberapa senyawa tersebut disajikan pada gambar 2. Dari berbagai senyawa yang terkandung dalam rimpang temu giring, senyawa yang dilaporkan mempunyai sifat antimutagenik adalah kurkumin dan flavonoid.

a. Kurkumin

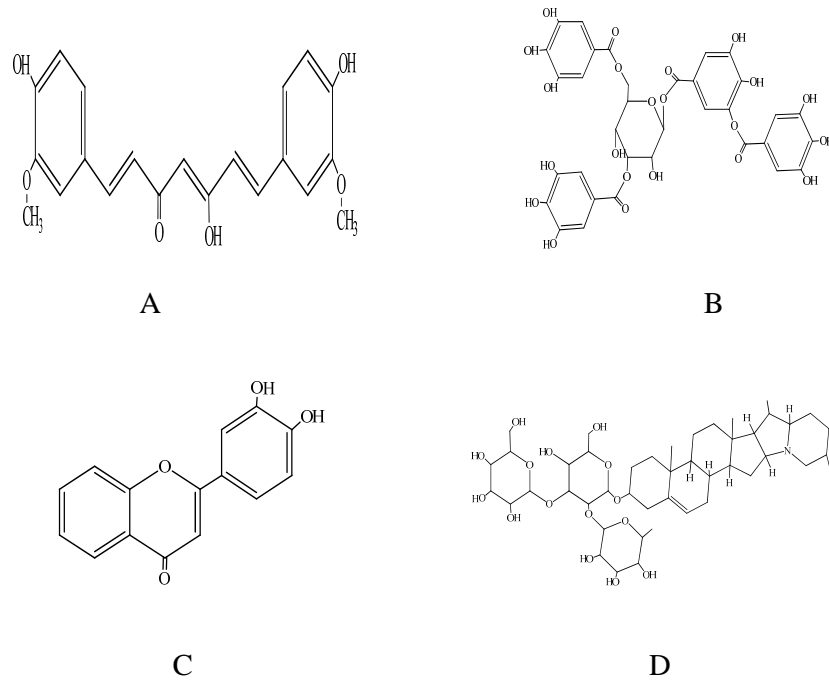
Kurkumin merupakan senyawa hasil isolasi dari tanaman *curcuma sp* dan telah berhasil dikembangkan sintesisnya oleh Pabon pada tahun 1964. Kurkumin telah lama digunakan dalam pengobatan tradisional untuk batuk, rematik, sinusitis, penyakit hati, diabetes, obat jerawat, dan penambah nafsu makan, serta juga digunakan sebagai pewarna bahan makanan, kosmetik, dan tekstil. Aktivitas hayati kurkumin yang banyak diteliti antara lain sebagai antioksidan, antiinflamasi, antitrombosis, pencegahan dan perawatan kanker, antimutagen, antiviral, antiparasitik, dan antimikrobia (Supardjan AM, 2006:72).

Kurkumin dapat diperoleh dari rimpang tanaman jenis *curcuma* berupa zat warna kuning. Oleh penduduk asia terutama India dan Indonesia, kurkumin ini sering digunakan sebagai bahan tambahan makanan, bumbu atau obat-obatan dan tidak menimbulkan efek toksik (Meiyanto, 1999:224-236).

b. Flavonoid

Flavonoid merupakan suatu kelompok senyawa yang banyak ditemui di alam, struktur molekulnya sederhana dan tersebar luas baik di tumbuhan tingkat tinggi ataupun tingkat rendah. Flavonoid adalah suatu senyawa fenolik yang potensial sebagai antioksidan dan mempunyai bioaktivitas sebagai obat. Senyawa-senyawa ini dapat ditemukan pada batang, daun, bunga ataupun buah. Manfaat flavonoid yaitu pencegah kanker, melindungi struktur sel, meningkatkan efektivitas vitamin C, anti-inflamasi, mencegah keropos tulang dan sebagai antibiotik (Resi Agestia Waji dan Andis Sugraini,2009:3).

Senyawa-senyawa dari flavonoida ini merupakan zat yang mempunyai warna merah, ungu dan biru dan sebagai zat warna kuning yang ditemukan pada tumbuh-tumbuhan. Flavonoida mempunyai kerangka dasar karbon yang terdiri dari 15 atom dimana terdapat dua cincin benzen (C_6) yang terikat pada suatu rantai propana (C_3) sehingga dapat membentuk suatu susunan C_6 - C_3 - C_6 (Sovia Lenny, 2006: 14).



Gambar 2, Senyawa-senyawa yang terkandung dalam rimpang temu giring: (A) kurkumin, (B) tanin, (C) flavonoid, (D) saponin.

2. Mutasi

Mutasi berasal dari kata *Mutatus* yang berasal dari bahasa latin yang mempunyai arti perubahan. Definisi dari mutasi adalah perubahan materi genetik (DNA) yang dapat diwariskan secara genetis kepada keturunannya, atau dapat pula di artikan bahwa mutasi adalah perubahan pada materi genetik suatu makhluk yang terjadi secara tiba-tiba, acak dan merupakan dasar bagi sumber variasi organisme hidup yang bersifat terwariskan (Chaidar Wariant, 2011: 1).

Apabila gen suatu enzim mengalami mutasi, maka enzim tersebut dapat menjadi inaktif atau kurang aktif karena urutan asam aminonya telah berubah. Perubahan genotip ini dapat bersifat merugikan atau bahkan mematikan, jika kehilangan sifat fenotip yang dibutuhkannya. Namun ada beberapa mutasi yang menguntungkan, seperti mutasi yang terjadi pada tumbuhan poliploid (Tortora, Funke dan Case, 2001:226).

Berdasarkan tempat terjadinya mutasi dapat dibagi dua, yaitu:

a. Mutasi titik (*point mutation*)

Mutasi titik adalah perubahan yang terjadi pada susunan molekul gen. Lokus gen sendiri tetap. Mutasi jenis ini menimbulkan perubahan alel. Mutasi gen diartikan sebagai suatu perubahan fisiokimiawi gen. Perubahan tersebut antara lain dapat berupa perubahan atau pergantian pasangan basa. Misalnya pasangan A-T diganti menjadi G-C. Peristiwa semacam ini antara lain disebabkan karena terjadi satu basa purin ataupun pirimidin oleh senyawa lain yang analog.

b. Mutasi besar (*gross mutation*)

Mutasi besar adalah perubahan yang terjadi pada struktur kromosom. Jenis mutasi ini disebabkan karena perubahan jumlah, susunan, atau urutan gen dalam kromosom. Mutasi kromosom sering terjadi karena kesalahan dalam proses meiosis dan mitosis.

Berdasarkan macam sel yang mengalami mutasi, mutasi dapat dibagi menjadi dua, yaitu:

c. Mutasi somatik

Mutasi somatik adalah mutasi yang terjadi pada sel soma. Bila perubahan sel somatik demikian besar dapat menyebabkan sel-sel mati dan jika sel dapat bertahan hidup terjadi kelainan atau tidak berfungsi secara normal. Bila sel somatik tidak meliputi daerah yang luas dan kurang penting maka hal tersebut tidak membahayakan. Akan tetapi bila meliputi daerah yang luas atau bagian yang penting dapat membahayakan bahkan dapat mematikan. Bila perubahan sel itu terjadi ketika sel somatik sedang membelah seperti pada embrio dapat mengakibatkan karakter abnormal waktu lahir, tetapi tidak diturunkan kepada generasi berikutnya.

d. Mutasi germinal (Mutasi gametis/generatif)

Mutasi germinal adalah mutasi yang terjadi pada sel gamet. Hal ini terjadi pada makhluk hidup bersel banyak. Bila perubahan berlangsung pada gamet maka akibat yang ditimbulkan hebat dan gamet akan mati. Kadang menyebabkan gamet tidak mampu melakukan pembuahan dengan wajar. Tetapi bila perubahan tidak begitu hebat dan gamet dapat melakukan pembuahan, terjadi generasi baru yang menerima perubahan genetik tersebut.

Berdasarkan efek pada protein (kodon), mutasi dapat dibagi menjadi empat, yaitu :

a. Mutasi bisu (*silent*)

Mutasi ini terjadi karena perubahan pada sebuah kodon (biasanya pada posisi ketiga) yang tidak mempengaruhi asam amino yang dikodekan (Susan L.Elrod, dan William D. Stansfield, 2002:68).

b. Mutasi *nonsense* (*nonsense mutation*)

Mutasi *nonsense* terjadi karena substitusi basa yang menyebabkan terbentuknya stop kodon (*nonsense*) di tengah molekul mRNA, sehingga protein yang disintesis tidak fungsional (Tortora, Funke, and Case, 2001:27)

c. Mutasi *missense* (*missense mutation*)

Mutasi *missense* yaitu mutasi yang disebabkan oleh terjadinya substitusi basa yang menyebabkan perubahan asam amino pada proses sintesis protein. Substitusi basa yang terjadi di dalam gen yang mengkode protein tertentu menyebabkan mRNA yang ditranskripsi dari gen akan membawa basa yang tidak sesuai pada posisi tersebut. Ketika mRNA ditranslasi menjadi protein, basa yang tidak sesuai itu dapat menyebabkan penyisipan asam amino yang tidak sesuai pula dalam protein.

d. Mutasi netral

Mutasi ini terjadi karena perubahan kodon sedemikian rupa sehingga dispesifikasikan sebuah asam amino yang berbeda, akan tetapi, asam amino yang baru itu berlaku serupa dengan asam amino yang asli (misalnya memiliki gugus fungsional yang mirip) dan tidak mengubah fungsi protein.

e. Mutasi bergeser kerangka (*frameshift*)

Mutasi ini terjadi karena pergeseran bingkai pembacaan yang disebabkan oleh delesi atau insersi dari satu atau beberapa nukleotida. Mutasi ini menghasilkan banyak kodon *missense* dan *nonsense* kearah hilir peristiwa mutasional (Susan L.Elrod, dan William D. Stansfield, 2002:68).

Mutasi ada yang bersifat spontan, yaitu mutasi yang terjadi saat aktivitas seluler normal tanpa ada pengaruh dari luar, terutama saat replikasi dan perbaikan DNA. Ada pula mutasi yang bersifat tidak spontan, yang terjadi karena induksi faktor dari luar seperti mutasi somatik.

Bahan atau agen di alam, seperti bahan-bahan kimia dan fisika yang secara langsung maupun tidak langsung menyebabkan mutasi disebut mutagen (Tortora, Funke, and Case,, 2001:228).

3. Aktivitas Antimutagenik

Uji antimutagenik dilakukan untuk mengetahui adanya kemungkinan senyawa yang mempunyai sifat antimutagen. Serangkaian uji antimutagenik dapat dilakukan dengan menggunakan dua metode yaitu secara *in vivo* dan secara *in vitro*.

Uji antimutagenik secara *in vivo* dilakukan pada hewan uji tertentu dengan menggunakan tiga metode. Metode tersebut yaitu penetapan letal dominan, penetapan inang penengah, dan sitogenetika secara *in vivo*.

Salah satu metode uji antimutagenik sitogenetika secara *in vivo* adalah dengan metode uji mikronukleus. Mikronukleus merupakan anak inti sel yang mempunyai bentuk bulat, kecil, dan berada di sekitar sitoplasma pada sel eritrosit. Mikronukleus berasal dari kromosom yang tertinggal pada saat sel melakukan mitosis sebagai hasil kerusakan pada perlengkapan benang kromosom, sehingga terbentuk mikronukleus pada tahap anafase (Yanti Lusiyanti dan Abdul Wa'id, 1999:22). Keunggulan dari mikronukleus yaitu (Yanti Lusiyanti dan Zubaidah Alatas, 2011:60):

- a. Dapat dikombinasikan dengan cara mendeteksi mutasi kromosom dan genom sekaligus.
- b. Dapat digunakan untuk banyak jenis sel, cepat, murah, dan sederhana

- c. Dapat membedakan antara sel yang sedang membelah dan tidak membelah.

Uji antimutagenik *in vitro* dapat dilakukan dengan menggunakan metode ames. Metode ames ini didasarkan pada pengamatan saat terjadinya mutasi balik pada bakteri mutan yang telah diberi perlakuan menggunakan senyawa antimutagenik tertentu Tortora, (Funke,dan Case, 2001:231).

4. Penelitian Yang Relevan

Penelitian Didi J. P dkk (2000) tentang aktivitas antimutagenik dan antioksidan daun puspa (*Schima wallichii* Kort) dengan menggunakan metode uji mikronukleus menunjukkan bahwa fraksi butanol ekstrak daun puspa dengan dosis 300 dan 600 mg/kg bb memiliki aktivitas antimutagenik. Ekstrak dengan dosis 300 mg/kg bb mampu menurunkan jumlah MNPCE dari preparat apus sumsum tulang mencit yang diinduksi dengan siklofosfamid sebesar 10,51 %, sedangkan ekstrak dengan dosis 600 mg/kg bb mampu menurunkan jumlah MNPCE sebesar 38,27 %.

Penelitian Sitorus dan Wahyudin (2012) mengenai uji antimutagenik ekstrak etanol Bunga Jantan Pepaya (*Carica papaya* L.) pada Mencit Jantan yang Diinduksi dengan Siklofosfamid, menunjukkan bahwa pemberian ekstrak etanol dapat menurunkan

jumlah mikronukleus. Hal ini mengidentifikasikan bahwa ekstrak etanol bersifat antimutagenik.

5. Kerangka Berpikir

Indonesia merupakan negara yang kaya akan tumbuhan berkhasiat yang dapat menyembuhkan berbagai macam penyakit. Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan oleh para ahli mengenai kandungan senyawa kimia tumbuhan berkhasiat Indonesia, ternyata banyak senyawa kimia yang memiliki aktivitas biologi yang berguna.

Pemanfaatan bahan alam sebagai salah satu alternatif pengobatan telah banyak dilakukan. Hal ini disebabkan karena bahan alam tersebut mengandung senyawa kimia dengan aktivitas biologis yang menarik, seperti antiinflamasi, antitumor, dan antihepatotoksik.

Temu giring banyak digunakan sebagai obat yang mempunyai kandungan kurkumin. Kurkumin dilaporkan mempunyai aktivitas antikanker dan aktivitas antimutagenik. Berdasarkan hal tersebut, maka perlu dilakukan penelitian tentang uji antimutagenik ekstrak metanol rimpang temu giring untuk mempelajari antimutageniknya, sehingga diharapkan senyawa ini dapat dimanfaatkan sebagai salah satu alternatif obat.

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Subyek dan objek Penelitian

1. Subyek Penelitian

Subjek dalam penelitian ini adalah rimpang temu giring yang diambil dari Pasar Beringharjo Yogyakarta.

2. Objek Penelitian

Objek dalam penelitian ini adalah aktivitas antimutagenik ekstrak metanol rimpang temu giring.

B. Variabel Penelitian

1. Variabel Bebas

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah konsentrasi ekstrak metanol rimpang temu giring, yang diberikan kepada hewan uji mencit jantan galur Balb-c yaitu 300 dan 600 mg/kg bb.

2. Variabel Terikat

Variabel terikat dalam penelitian ini adalah aktivitas antimutagenik ekstrak metanol rimpang temu giring.

C. Alat dan Bahan

1. Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah satu set alat pembacaan preparat yang terdiri dari mikroskop cahaya merk Olympus, kamera, dan counter, almari es, pipet volume 1 ml, gelas ukur 10 dan 100 ml, pipet tetes, pengaduk, spatula, *deckglasser* ukuran 22 x 22 mm, gelas objek, sentrifuge hettich, ependorf, seperangkat alat bedah yang terdiri dari gunting, pinset, dan pisau bedah, neraca analitik, spruit oral dan spet, erlenmeyer, gelas beker, satu set alat evaporator buchi, kain saring, jirigen, penggiling, oven, pisau.

2. Bahan

a. Bahan Uji

Ekstrak metanol rimpang temu giring.

b. Hewan Uji

Hewan uji yang digunakan adalah mencit jantan galur Balb-c yang berusia 6 sampai 7 minggu dengan berat badan 30 sampai 40 g. Mencit diperoleh dari Laboratorium Penelitian dan Pengujian Terpadu Universitas Gadjah Mada (LPPT UGM). Mencit ditempatkan dalam kandang yang berbeda untuk tiap perlakuan. Selama perlakuan, mencit diberi makan dengan pellet 789 dan minuman dari air ledeng yang masing-masing diberikan secara *ad-libitum*.

c. Bahan Kimia

Na-CMC (*Natrium Carboxy Methyl Cellulose*) digunakan sebagai pensuspensi bahan uji yang akan dianalisis aktivitas antimutageniknya terhadap sel eritrosit mencit, siklofosamid monohidrat digunakan sebagai agen alkilasi, metanol digunakan sebagai pelarut serbuk temu giring , etanol digunakan untuk menfiksasi hasil yang diperoleh dari pengamatan mikroskopik preparat apus yang kurang jelas , xylol digunakan untuk menfiksasi preparat apus sumsum tulang, akuades digunakan sebagai mencuci preparat, pewarna giemsa digunakan sebagai pemberi warna pada preparat, sedangkan NaCl fisiologis digunakan untuk membuat sel yang diambil seperti keadaan di dalam tubuh.

D. Metode Pengumpulan Data

Data yang diperlukan dalam penelitian ini adalah jumlah MNPCE dari preparat apus pada sumsum tulang paha pada mencit jantan. Jumlah MNPCE kelompok kontrol dibandingkan dengan kelompok perlakuan, sehingga sifat mutagenik dan aktivitas mutagenik ekstrak metanol rimpang temu giring dapat diketahui.

Pada penelitian ini menggunakan mencit jantan galur Balb-c sebanyak 25 ekor. Hewan uji ini kemudian dibagi menjadi 5 kelompok perlakuan yang masing-masing terdiri dari 5 ekor mencit. Pembagian dan perlakuan masing-masing kelompok hewan uji dapat dilihat pada tabel 1

Tabel 1.Pembagian kelompok dan perlakuan terhadap hewan uji

Kelompok	Perlakuan	Dosis pemberian (mg/kg bb)	Keterangan
I	Na-CMC 1%	50	Kontrol negatif
II	Siklofosfamid	50	Kontrol Positif
III	Ekstrak metanol	600	Kontrol ekstrak
IV	Ekstrak metanol & Siklofosfamid	300* & 50**	Perlakuan 1
V	Ekstrak metanol & Siklofosfamid	600* & 50**	Perlakuan 2

Keterangan :

Ekstrak metanol : Ekstrak metanol temu giring

* : Dosis untuk ekstrak metanol temu giring

** : Dosis untuk siklofosfamid

E. Prosedur Penelitian

1. Pembuatan Bahan Uji

a. Pembuatan Ekstrak Metanol

1) Penyediaan Bahan

Rimpang yang diambil dari tumbuhan temu giring dikupas dan dikeringkan dengan menggunakan oven, lalu digiling hingga diperoleh serbuk halus. Serbuk halus sebanyak 3 kg kemudian dimaserasi.

2) Pembuatan Ekstrak Metanol

Serbuk halus rimpang tumbuhan temu giring sebanyak 3 kg dimasukkan ke dalam jirigen ukuran 25 L kemudian diberi metanol sebanyak 10 L. Metanol yang digunakan adalah metanol teknis. Maserasi dilakukan selama 24 jam pada suhu kamar dan dilakukan pengulangan sebanyak 2 kali. Penyaringan dengan kain saring setiap 1 x 24 jam. Kemudian serbuk basah dimaserasi lagi menggunakan metanol.

3) Evaporasi

Ekstrak metanol hasil dari maserasi kemudian dikumpulkan dan dievaporasi dengan tujuan untuk menguapkan pelarut, sehingga diperoleh ekstrak metanol pekat. Evaporasi dilakukan pada tekanan rendah sampai pelarut metanol tidak menetes lagi pada labu.

b. Pembuatan Larutan Na-CMC 1% (b/v)

Sebanyak 1 gram Na-CMC dilarutkan dalam akuades hingga mencapai volume 100 mL, kemudian diaduk hingga homogen. Larutan Na-CMC 1%(b/v) ini digunakan sebagai pensuspensi bahan uji yang akan dianalisis pada aktivitas antimutageniknya terhadap sel eritrosit mencit. Seperti terlihat pada lampiran 1.

c. Pembuatan Siklofosfamid Dosis 50 mg/kg bb

Pembuatan siklofosfamid pada dosis 50 mg/kg bb dalam akuades steril ini disesuaikan dengan berat mencit yang akan diinduksi. Seperti terlihat pada lampiran 1.

d. Pembuatan Sediaan Bahan Uji

Pembuatan stok larutan ekstrak metanol rimpang temu giring 1% dengan melarutkan sebanyak 1 gram ekstrak dari metanol rimpang temu giring dengan menggunakan larutan Na-CMC 1% hingga mencapai volume 100 ml. Pemberian ekstrak metanol dari rimpang temu giring dengan dosis 300 mg/kg bb dan dosis 600 mg/kg bb disesuaikan dengan berat pada mencit yang akan diinduksi. Seperti terlihat pada lampiran 1.

2. Perlakuan Pada Hewan Uji

Sebanyak 25 ekor mencit dibagi menjadi 5 kelompok. Setiap kelompok ditempatkan dalam kandang plastik yang berbeda dengan

alas sekam, suhu ruangan 27°C, kelembaban 52% dan cahaya diatur dengan regulator 12 jam terang 12 jam gelap. Sebelum perlakuan, mencit dipuasakan selama 18 jam, akan tetapi selama perlakuan semua mencit diberi makan berupa pellet-789 dan minuman dari air ledeng yang masing-masing diberikan secara *ad-libitum*.

Ekstrak metanol rimpang temu giring yang telah disuspensi dengan Na-CMC diberikan secara *peroral* dengan menggunakan spruit oral yang langsung dimasukkan ke dalam lambung mencit, sedangkan larutan siklofosamid diinjeksikan secara *intraperitoneal*. Perlakuan dilakukan selama 2 hari. Kemudian pada hari kedua tepatnya 6 jam setelah pemberian siklofosamid, semua mencit dibunuh dengan cara dislokasi leher dan dibedah untuk diambil sumsum tulang. Perlakuan pada hewan uji dapat dilihat pada tabel 2.

Tabel 2. Perlakuan pada hewan uji

Kel	Perlakuan				
	Jam ke-0	30 menit kemudian	24 jam kemudian	30 menit kemudian	6 jam kemudian
I	Lar. Na-CMC peroral 50 mg/kg bb	-	Lar. Na-CMC peroral 50 mg/kg bb	-	Dislokasi leher dan pembedahan untuk diambil kedua tulang pahanya
II	Injeksi larutan siklofosamid dosis 50 mg/kg bb dalam akuades steril	-	Injeksi larutan siklofosamid dosis 50 mg/kg bb dalam akuades steril	-	
III	Temu giring peroral dosis 600 mg/kg bb dalam Na-CMC 1%	-	Temu giring peroral dosis 600 mg/kg bb dalam Na-CMC 1%	-	
IV	Temu giring peroral dosis 300 mg/kg bb dalam Na-CMC 1%	Injeksi siklofosamid dosis 50 mg/kg bb dalam akuades steril	Temu giring peroral dosis 300 mg/kg bb dalam Na-CMC 1%	Injeksi larutan siklofosamid dosis 50 mg/kg bb dalam akuades steril	
V	Temu giring peroral dosis 600 mg/kg bb dalam Na-CMC 1%	Injeksi siklofosamid dosis 50 mg/kg bb dalam akuades steril	Temu giring peroral dosis 600 mg/kg bb dalam Na-CMC 1%	Injeksi larutan siklofosamid dosis 50 mg/kg bb dalam akuades steril	

3. Pembuatan preparat apus sumsung tulang mencit

Enam jam setelah pemberian siklofosfamid yang kedua, semua mencit dibunuh dengan cara dislokasi leher, kemudian dibedah untuk diambil sumsung tulang kedua pahanya. Sumsum tulang diambil dengan menggunakan spuit yang berisi 1 ml NaCl fisiologis kemudian disentrifugasi dengan kecepatan 1000 rpm selama 10 menit. Supernatan yang dihasilkan dibuang menggunakan pipet tetes, sedangkan endapan yang dihasilkan digunakan sebagai sediaan sel.

Sediaan sel kemudian dibuat preparat apus pada gelas objek, dengan cara meneteskan sediaan sel pada gelas objek selanjutnya diratakan dengan *deckglasser* pada derajat kemiringan 45°. Kemudian preparat apus dikeringkan pada suhu kamar dan difiksasi dengan metanol absolut selama 10 menit. Preparat apus yang telah kering ini kemudian dicelupkan ke dalam larutan pewarna Giemsa 20% selama 30 menit. Setelah terwarna, kemudian preparat apus dicuci dengan menggunakan air yang mengalir dan dikeringkan kembali pada suhu kamar. Preparat apus ini lalu diamati jumlah MNPCE dibawah mikroskop dengan perbesaran 1000 kali untuk setiap 100 sel eritrosit polikromatik (PCE).

Apabila hasil yang didapat dari pengamatan mikroskopik preparat apus kurang jelas, maka preparat tersebut difiksasi kembali menggunakan etanol 30,50,70 dan 80% serta etanol absolut secara bertingkat masing- masing selama 10 menit. Pada setiap akhir proses

fiksasi menggunakan etanol, preparat dicuci dengan air yang mengalir. Langkah terakhir yaitu menfiksasi preparat dengan menggunakan xylol selama 10 menit. Kemudian preparat dicuci menggunakan air yang mengalir dan dikeringkan kembali pada suhu kamar. Preparat kemudian diamati kembali jumlah MNPCE dibawah mikroskop dengan perbesaran 1000 kali untuk setiap 1000 PCE.

F. Teknik Analisis Data

Teknik analisis data yang digunakan dalam mengetahui jumlah aktivitas antimutagenik ekstrak metanol rimpang temu giring dan adanya aktivitas antimutagenik ekstrak metanol rimpang temu giring adalah dengan deskripsi kualitatif hasil pengamatan secara mikroskopik dan perbandingan kuantitatif hasil pengamatan jumlah MNPCE kelompok kontrol dengan kelompok perlakuan. Untuk prosentase penurunan jumlah MNPCE dapat dihitung dengan menggunakan rumus sebagai berikut:

Persentase aktivitas

$$= \frac{\Sigma MNPCE_{siklofosamid} - (\Sigma MNPCE_{sampel} + \Sigma MNPCE_{blanko} + \Sigma MNPCE_{kontrol})}{\Sigma MNPCE_{siklo} - (\Sigma MNPCE_{blanko} + \Sigma MNPCE_{kontrol})} \times 100\%$$

Keterangan :

$\Sigma \text{MNPCE}_{\text{siklofosfamid}}$: Rata-rata jumlah MNPCE kelompok kontrol

positif

$\Sigma \text{MNPCE}_{\text{sampel}}$: Rata-rata jumlah MNPCE sampel

$\Sigma \text{MNPCE}_{\text{blanko}}$: Rata-rata jumlah MNPCE blanko

$\Sigma \text{MNPCE}_{\text{kontrol}}$: Rata-rata jumlah MNPCE kontrol

BAB 1V

HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

A. HASIL PENELITIAN

Penelitian ini dilakukan untuk mempelajari aktivitas antimutagenik ekstrak metanol rimpang temu giring terhadap sel eritrosit secara *in vivo*. Aktivitas antimutagenik ini ditunjukkan dengan persentase penurunan jumlah MNPCE pada preparat apus sumsung tulang mencit yang telah diberi ekstrak dan telah diinduksi dengan siklofosamid. Hasil penelitian yang berupa persentase MNPCE dapat dilihat pada tabel 3.

Tabel 3. Rerata Jumlah MNPCE Dan Persentase Aktivitas MNPCE pada sumsung tulang mencit.

Ke	Replikasi	Jumlah MNPCE	Rerata jumlah MNPCE \pm Deviasi Standar	Persentase aktivitas
I	1	0	0	-
	2	0		
	3	0		
II	1	7	7,33 \pm 1,247	-
	2	6		
	3	9		
III	1	0	0	-
	2	0		
	3	0		
IV	1	0	0,33 \pm 0,577	95,5
	2	0		
	3	1		
V	1	0	0,33 \pm 0,577	95,5
	2	0		
	3	1		

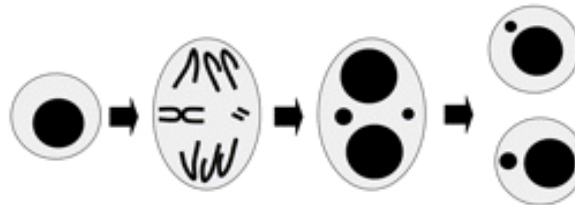
Keterangan :

- Kelompok I : Kontrol negatif dengan pemberian larutan Na-CMC
- Kelompok II : Kontrol positif dengan pemberian larutan siklofosfamid dosis 50 mg/kg bb
- Kelompok III : Pemberian ekstrak metanol rimpang temu giring dosis 600 mg/kg bb
- Kelompok IV : Pemberian ekstrak metanol rimpang temu giring dosis 300 mg/kg bb dan larutan siklofosfamid dosis 50 mg/kg bb
- Kelompok V : Pemberian ekstrak metanol rimpang temu giring dosis 600 mg/kg bb dan larutan siklofosfamid dosis 50 mg/kg bb

B. PEMBAHASAN

Mutasi merupakan perubahan yang terjadi pada gen atau pada kromosom. Mutasi dapat dikaitkan dengan timbulnya berbagai kelainan. Selain dapat terjadi secara spontan, mutasi juga dapat diinduksi oleh berbagai faktor, misalnya seperti radiasi, senyawa kimia tertentu, dan virus. Faktor-faktor penginduksi mutasi dikenal dengan istilah mutagen (Didi Jauhari Purwadiwa dkk, 2000:18).

Salah satu indikator terjadinya mutasi yaitu adanya mikronukleus. Mikronukleus merupakan hasil mutasi dari kromosom utuh yang patah kemudian tampak sebagai nukleus yang berukuran kecil di dalam suatu sel. Mikronukleus mudah diamati pada sel polikromatik eritrosit. Jumlah sel eritrosit polikromatik bermikronukleus menunjukkan tingkat kerusakan genetik dalam sistem eritropoetik suatu makhluk hidup (Schmid D, 1975: 31). Proses pembentukan mikronukleus ini dapat dilihat pada gambar 3.

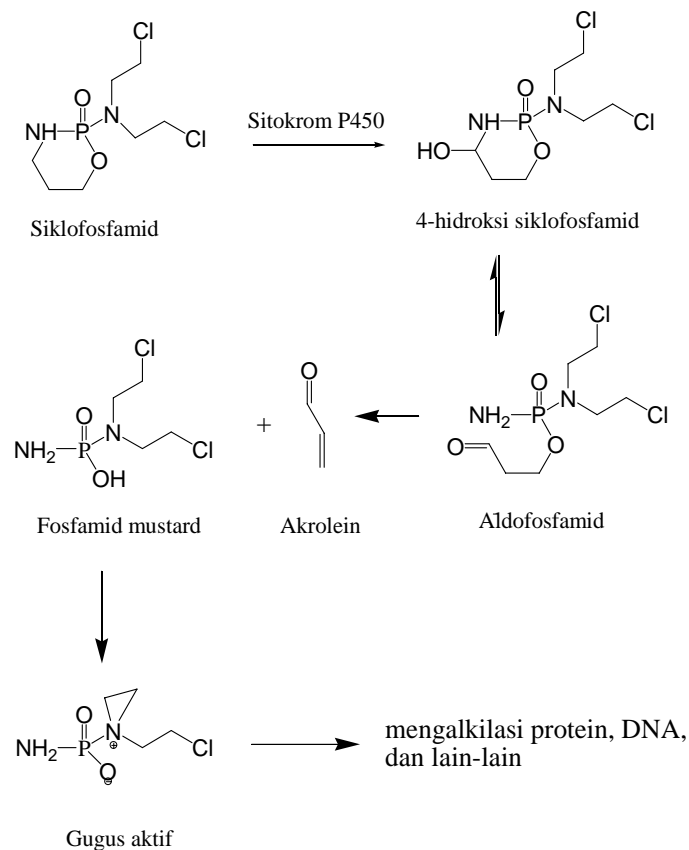


Gambar 3. Pembentukan mikronukleus dari kromosom yang tertinggal pada tahap anafase

Pada penelitian ini, pada saat sel membelah maka kromosom yang telah membelah akan tertarik oleh benang spindel ke kedua kutub sel. Benang spindel yang menarik kromosom tadi melekat pada kromosom dibagian kromosom yang disebut dengan sentromer. Bila kromosom patah, maka patahan itu tidak memiliki sentromer, dan saat kromosom tertarik ke dalam kedua kutub sel, patahan kromosom tidak ikut. Kemudian saat membran inti terbentuk, maka patahan kromosom akan

berada di luar inti, karena inti terbentuk di daerah kromosom berkumpul, jauh dari patahan kromosom tadi. Selain karena patahan kromosom, mikronukleus juga dapat terbentuk apabila ada gangguan pada pembentukan benang spindel, yang dapat terjadi apabila sel terpapar pada racun spindel, contohnya kolkisin. Dalam hal ini, mikronukleus terbentuk mengandung kromosom yang utuh, bukan sekedar patahan kromosom (Iskandar O, 1981:5).

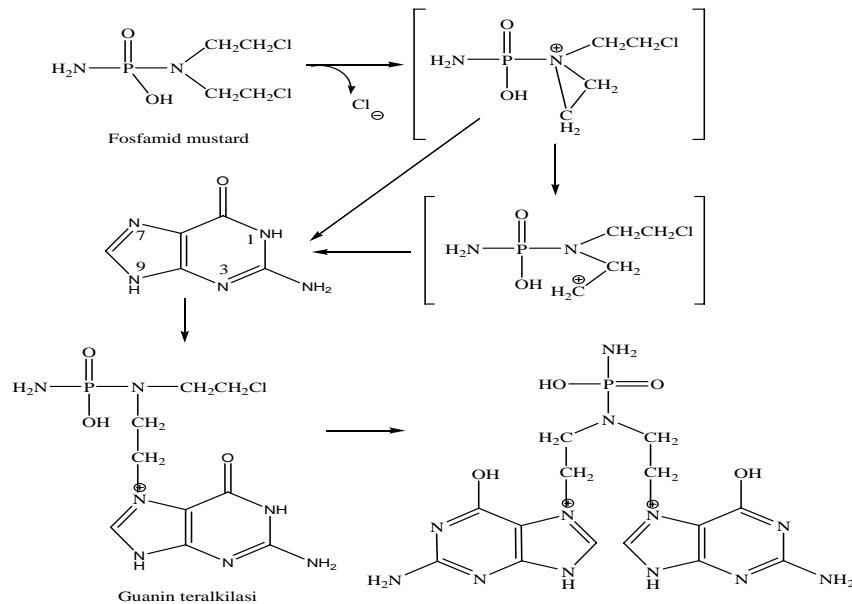
Pada penelitian ini, menggunakan siklofosfamid dan Na-CMC. Siklofosfamid merupakan bahan untuk menyuntikkan di bagian intravena, setelah disuntikan siklofosfamid. Siklofosfamid tidak mempunyai efek vesicant langsung dan harus diaktifkan menjadi bentuk sitotoksik dengan enzim mikrosom. Struktur kimia siklofosfamid monohidrat dan Mekanisme siklofosfamid mengalkilasi sel dapat dijelaskan pada gambar 4. Pembentukan mikronukleus ini diinduksi dengan pemberian siklofosfamid monohidrat. Siklofosfamid monohidrat sendiri mempunyai bahan aktif berupa betakloroetil yang berikatan dengan gugus siklis fosfamid. Siklofosfamid dapat menginduksi pembentukan mikronukleus melalui metabolit aktifnya yang bersifat pengalkilasi, yaitu fosfamid mustard, akrolein, dan 4-hidroksisiklofosfamid.



Gambar 4. Mekanisme siklofosfamid mengalkilasi sel

Senyawa pengalkilasi tersebut dapat berikatan dengan berbagai unsur, termasuk berikatan dengan basa DNA. Alkilasi fosfamid mustard pada DNA terjadi pada posisi N7 guanin (Gambar 6), N1 dan N3 adenin, N3 sitosin, dan O6 guanin, serta atom-atom fosfat dan protein yang terkait dengan DNA (Katzung, 2004:305). Akibat dari reaksi tersebut antara lain dapat mengakibatkan terjadinya patahan rantai DNA yang menyebabkan terjadinya patahan kromosom dan terlihat sebagai mikronukleus (Didi J.P. dkk,

2000:20). Siklofosfamid juga bereaksi secara kimia dengan gugusan sulfahidril, amino, hidroksil, karboksil dan fosfat dari semua nukleofil sel (Salmon dan Alan, 1998:861,865).

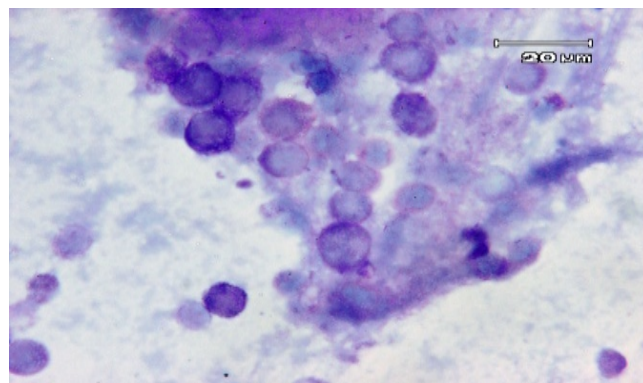


Gambar 5. Mekanisme Alkilasi DNA guanin

Bahan lainnya yaitu Na-CMC, Na-CMC atau dikenal juga dengan karboksimetilselulosa Natrium merupakan garam natrium dari polikarboksimetil eter selulosa dan mengandung tidak kurang dari 6,5% dan tidak lebih dari 9,5% natrium (Na) yang telah dihitung terhadap jumlah zat yang telah dikeringkan. Na-CMC memiliki bentuk berupa serbuk atau granul yang berwarna putih sampai krem. Na-CMC merupakan senyawa higroskopis, sehingga akan mudah larut dan dapat terdispersi dalam air yang membentuk larutan koloidal. Na-CMC tidak larut dalam etanol, eter,

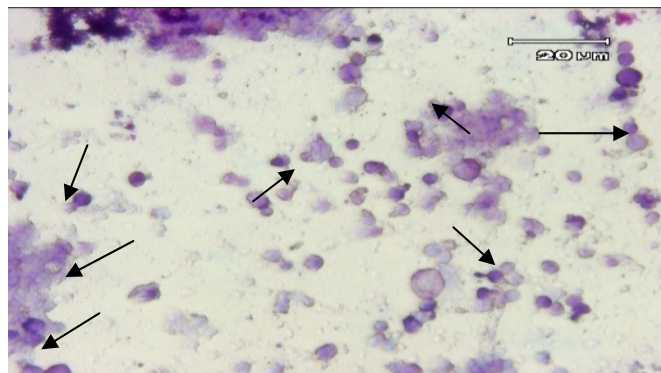
maupun pelarut organik lain. Na-CMC sering digunakan untuk bahan penyalut, agen pensuspensi, stabilisator, bahan pengikat pada tablet, bahan penghancur pada tablet dan kapsul serta bahan yang mampu meningkatkan viskositas. Dalam sediaan bukan mukoadesif, Na-CMC juga berperan sebagai bahan tambahan yang berfungsi untuk melindungi perekatan produk dari kerusakan pada jaringan mukosa (Febrind Chandikya Nuria Majid, 2009: 7-8).

Dari tabel 3 terlihat bahwa pada kelompok I tidak terdapat MNPCE. Hal tersebut menunjukkan bahwa pada Na-CMC tidak bersifat mutagenik, karena pemberian larutan Na-CMC tidak menyebabkan terjadinya mutasi genetik yang pada penelitian ini ditunjukkan dengan tidak adanya mikronukleus. Hal tersebut didukung dengan gambar mikroskopis sel eritrosit kelompok I (Gambar 6) yang memperlihatkan sel eritrosit normal tanpa adanya mikronukleus.



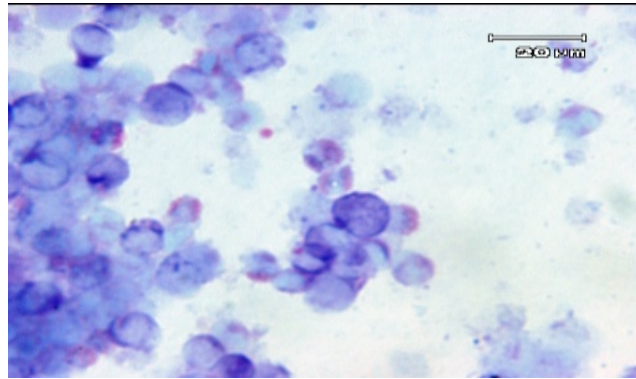
Gambar 6 . Gambar Mikroskopis Sel Eritrosit Normal Kelompok I
Dengan Perbesaran 100 X

Pada tabel 3 terlihat jelas bahwa jumlah MNPCE pada kelompok II yaitu pada kelompok siklofosfamid menunjukkan bahwa rerata jumlah terbesar adalah sekitar 8 MNPCE yang dihitung per 1000 sel. Jumlah ini lebih besar daripada kelompok perlakuan yang lain. Hal tersebut menunjukkan bahwa pemberian siklofosfamid dapat menyebabkan terjadinya mutasi genetik. Ditunjukkan dengan banyaknya jumlah MNPCE pada preparat apus sumsum tulang. Gambar mikronukleus kelompok II dapat dilihat pada gambar 7.



Gambar 7. Gambar Mikroskopis MNPCE Kelompok II / Kontrol Positif Dengan Perbesaran 100 X

Hasil pengamatan pada kelompok III yaitu pada ekstrak metanol rimpang temu giring dosis 600 mg/kg bb menunjukkan bahwa ekstrak metanol rimpang temu giring tidak bersifat mutagenik, disebabkan oleh tidak terjadinya mutasi genetik. Hasil pengamatan tersebut dapat dilihat pada gambar 8 .

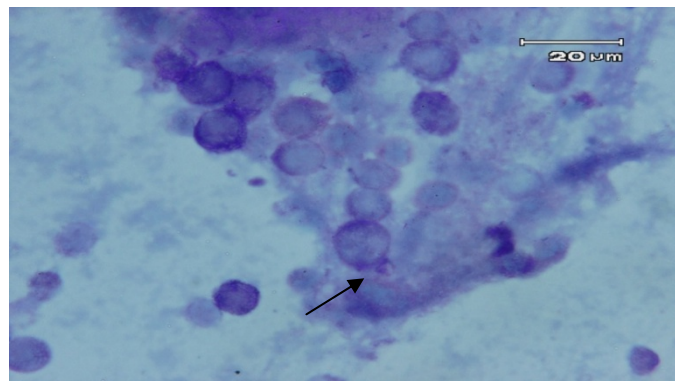


Gambar 8. Gambar mikroskopis sel eritrosit normal kelompok III dengan perbesaran 100 X

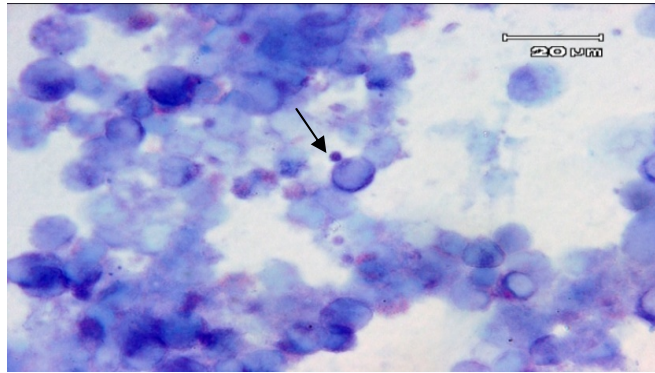
Senyawa kimia yang terdapat pada rimpang temu giring adalah kurkumin dan flavonoid. Senyawa kurkumin dan flavonoid dilaporkan mempunyai aktivitas farmakologis sebagai antmutagenik. Hal ini terlihat pada hasil pengamatan kelompok IV dan V. Pada kelompok perlakuan ini terlihat bahwa ekstrak metanol rimpang temu giring dapat menghambat terjadinya mutasi gen yang ditunjukkan dengan terjadinya penghambatan jumlah MNPCE pada preparat apus sumsum tulang. Oleh karena itu, dapat dikatakan bahwa ekstrak metanol rimpang temu giring menunjukkan aktivitas antimutagenik.

Pada kelompok IV (ekstrak metanol rimpang temu giring dosis 300 mg/kg bb dan larutan siklofosamid dosis 50 mg/kg bb) dan pada kelompok V (ekstrak metanol rimpang temu giring dosis 600 mg/kg bb dan larutan siklofosamid dosis 50 mg/kg bb) menunjukan indikasi yang sama. Terlihat

bahwa terjadi persentase aktivitas yang sama yaitu 95,5%. Terjadinya penghambatan jumlah MNPCE ini mungkin disebabkan adanya interaksi antara senyawa flavonoid dengan senyawa kurkumin yang terkandung di dalam ekstrak dengan bahan aktif siklofosfamid, sehingga metabolit aktif dari siklofosfamid yang dapat menimbulkan terjadinya mutasi gen. Pada penelitian dari Loganthan dan Natarajan pada tahun 2008 bahwa kurkumin secara signifikan dapat mengurangi frekuensi mikro eritrosit polikromatik bernukleus pada tikus, melindungi efek kurkumin yang telah diberi siklofosfamid dan adanya tindakan seperti pembentukan kompleks dengan mutagen dan modulasi mutagen sehingga dapat menghambat aktivitas mutagenik. Perhitungan persentase MNPCE dapat dilihat pada lampiran V, sedangkan gambar mikroskopis kelompok IV dapat dilihat pada gambar 9 dan kelompok V dapat dilihat pada gambar 10.



Gambar 9. Gambar mikroskopis MNPCE kelompok IV dengan perbesaran 100 X



Gambar 10. Gambar mikroskopis MNPCE kelompok V dengan perbesaran 100 X

Dari hasil pengamatan dan analisis data terlihat jelas bahwa pemberian ekstrak metanol rimpang temu giring dengan dosis 600 mg/kg bb dapat menghambat mutasi genetik yang diakibatkan oleh pemberian siklofosamid 50 mg/kg bb. Dengan kata lain, konsentrasi ekstrak tidak berpengaruh terhadap aktivitas antimutagenik. Hal tersebut ditunjukkan dengan besarnya persentase MNPCE pada pemberian ekstrak dengan dosis yang semakin meningkat pada persentase 95,5%. Mempunyai aktivitas antimutagenik ditunjukkan dengan adanya MNPCE.

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

A. KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian dan pembahasan di atas, maka dapat disimpulkan ekstrak metanol rimpang temu giring dengan dosis 300 dan 600 mg/kg bb memiliki aktivitas antimutagenik. Persentase aktivitas antimutagenik ekstrak metanol rimpang temu giring pada dosis 300 mg/kg bb dan juga pada dosis 600 mg/kg adalah 95,5%.

B. SARAN

1. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mempelajari aktivitas antimutagenik terhadap rimpang temu giring dengan variasi dosis yang berbeda.
2. Perlu dilakukan adanya penelitian untuk mempelajari aktivitas antimutagenik ekstrak metanol rimpang temu giring terhadap organ lain.

DAFTAR PUSTAKA

- Agustina Setiawati, Endah Puji Septisetyani, Titi Ratna Wijayanti, M.Rifki Rokhman. Sambung Nyawa (*Gynura procumbens* (Lour.) Merr.) sebagai Agen Kemopreventif. Fakultas Farmasi Universitas Gadjah Mada.
- Anonim. (1989).Materia Medika Indonesia, jilid V Departemen Kesehatan RI
- Chaidar Wariato. (2011).*Mutasi*. Universitas airlangga.
- Didi Jauhari Purwadiwarsa, Anas Subarnas, Cucu Hadiansyah, Supriyatna.(2000). Aktivitas Antimutagenik dan Antioksidan Daun puspa (*schima wallichii kort*).*Cermin Dunia Kedokteran* no.127.
- Fauziah Muhlisah.(2007). Temu-temuan dan Empon-empon budidaya dan manfaatnya. Yogyakarta: kanisius.
- Febrind Chandikya Nuria Majid.(2009). *Formulasi Patch Mukoadhesif Propanolhidroklorida:Pengaruh Perbandingan Konsentrasi Natrium Karboksimetilselulosa dan Polivinil Pirolidon Terhadap Sifat Fisik Patchdan Pelepasan Obat*. Skripsi Fakultas Farmasi Universitas Muhamadiyah Surakarta.
- Hembing Wijayakusuma. (2006). *Sehat dengan Temu Giring*. <http://www.suarakarya-online.com/>. Diakses pada tanggal 11 juni 2012.
- Iskandar O. (1981). *The micronucleus test [method and its Application in Detection Chromosomal aberrations in Human Cells in Culture as well as Diagnosis of Patients with Chromosome Breakage Disrases]*.Disertasi. Jakarta:University of Indonesia.
- Katno dan Pramono. (2008). *Tingkat Manfaat dan Keamanan Obat dan Obat Tradisional*. Balai Penelitian Tanaman Obat Tawangmangu Fakultas Farmasi UGM.
- Katzung, B.G. (2004). *Farmakologi Dasar dan Klinik*. Jakarta : Salemba Medika.
- Majeed, M., Badmaev, V., Shirakumar U., and Rajendran, R., (1995), *Curcuminoids antioxidant phytonutrients*, NutriScience Publisher Inc., PisCataway, New Jersey
- Meiyanto, E. (1999). Kurkumin Sebagai Obat Anti Kanker: Menelusuri Mekanisme Aksinya, *Majalah Farmasi Indonesia*.
- Mustafa T, Sri Vastava, dan Jensen KB.(1993). *Drug Development Report g.Pharmacology of Ginger*. Zingiber Officinale, Drug Dev.

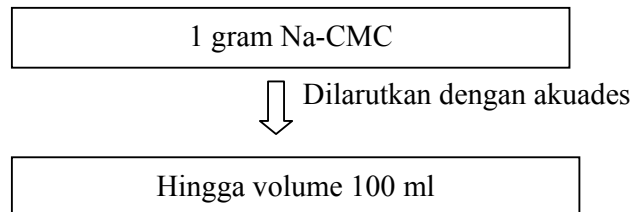
- Nur Habibah. (2008). *Uji Mutagenik Ekstrak Etanol Kulit Batang Hopea Mengarawan (Dipterocarpaceae) Terhadap Sumsung Tulang Mencit Secara In Vivo*. Skripsi FMIPA UNY.
- Resi Agestia Waji dan Andis Sugrani. (2009). *Makalah Kimia Organik Bahan Alam Flavonoid (Quercetin)*. Program S2 Kimia Universitas Hasanudin.
- Salmon, S.E, dan Alan, C.S. (1998). *Kemoterapi Kanker. Dalam: Farmakologi Dasar dan Klinik*. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran ECG.
- Schmid, W. (1975). The micronucleus test. *Mutation Res.*
- Sitorus dan Wahyudin. (2012). *Uji Antimutagenik Ekstrak Etanol Bunga Jantan Pepaya (Carica papaya L.) pada Mencit Jantan yang Diinduksi dengan Siklofosfamid*. Fakultas Farmasi Universitas Sumatra Utara
- Slamet Soesilo. (1986). *Materia Medika Indonesia jilid V&VI*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Sovia Lenny. (2006). *Senyawa Flavonoida, Fenilpropanoida, dan Alkaloida*. Medan: Departemen Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Sumatra Utara.
- Supardjan, AM, Enade Perdana dan Muhammad Da'i. (2006). *Hubungan kuantitatif Struktur dengan Aktivitas Sitotoksik Turunan Kurkumin Tersubstitusi pada c-4 terhadap sel myeloma*.
- Susan, L.E., dan William D.S. (2002). *Teori dan Soal-Soal Genetika Edisi Keempat*. Jakarta : Erlangga.
- Syamsuhidayat, SS dan J.R Hutapea. (1991). *Inventaris Tanaman Obat Indonesia (I)* Departemen Kesehatan RI Balitbangkes.
- Thomas A.N.S. (2007). *Tanaman obat tradisional 2*. Yogyakarta: kanisius.
- Tortora, Funke, and Case. (2001). *Microbiology and Introduction 7th Edition*. New York : an imprint of Adisson Wesley Longman, Inc
- Yanti Lusianti dan Abdul Wa'id. (1999). Mikronuklei sebagai Dosimetri Biologi *Buletin ALARA*. 2(3). 21-26.
- Yanti Lusianti dan Zubaidah Alatas. (2011). Uji Mikronuklei dengan pengeblokan Sitokinesis Pada Limfosit dan amplikasinya Sebagai Biodosimetri Radiasi. Seminar Nasional Keselamatan Kesehatan dan Lingkungan VII. Jakarta.
- Yulia Eka Fitriyanti. (2006). Pengaruh perasan rimpang temu giring terhadap mortalitas cacing hati (*Fasciola gigantica* L.) secara in vitro.

Lampiran

LAMPIRAN I

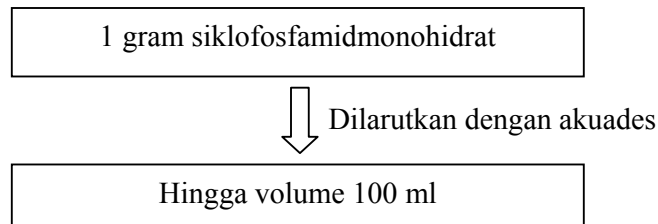
Pembuatan Bahan Uji

A. Pembuatan Larutan Na-CMC 1% (b/v)



B. Pembuatan Siklofosfamid Dosis 50 mg/kg bb

1. Pembuatan Stok Larutan Siklofosfamid 1%



2. Pemberian Larutan Siklofosfamid Dosis 50 mg/kg bb

Jika mencit mempunyai berat 35 gram, maka siklofosfamid yang dibutuhkan adalah:

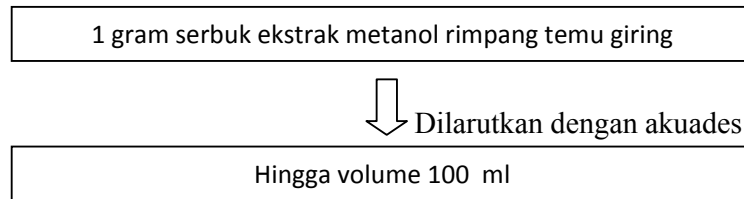
$$\frac{35 \text{ g}}{1000 \text{ g}} \times 50 \text{ mg} = 1,75 \text{ mg}$$

Apabila stok larutan siklofosfamid dalam air steril yang tersedia adalah 1%, maka jumlah larutan yang diinduksi secara *intraperitoneal* ke hewan uji adalah:

$$\frac{1,75 \text{ mg}}{1000 \text{ mg}} \times 100 \text{ ml} = 0,175 \text{ ml}$$

C. Pembuatan Sediaan Bahan Uji

1. Pembuatan stok larutan ekstrak metanol rimpang temu giring 1%



2. Pemberian ekstrak metanol rimpang temu giring dosis 300 mg/kg bb

Jika mencit mempunyai berat 35 g, maka ekstrak yang dibutuhkan adalah :

$$\frac{35gr}{1000gr} \times 300mg = 10,5 mg$$

Apabila stok larutan ekstrak metanol rimpang temu giring dalam larutan Na-CMC yang tersedia adalah 1%, maka ekstrak yang diberikan secara *peroral* pada mencit adalah:

$$\frac{10,5mg}{1000mg} \times 100ml = 1,05 ml$$

3. Pembuatan ekstrak metanol rimpang temu giring dengan dosis 600 mg/kg bb

Jika mencit mempunyai berat 35 g, maka ekstrak yang dibutuhkan adalah :

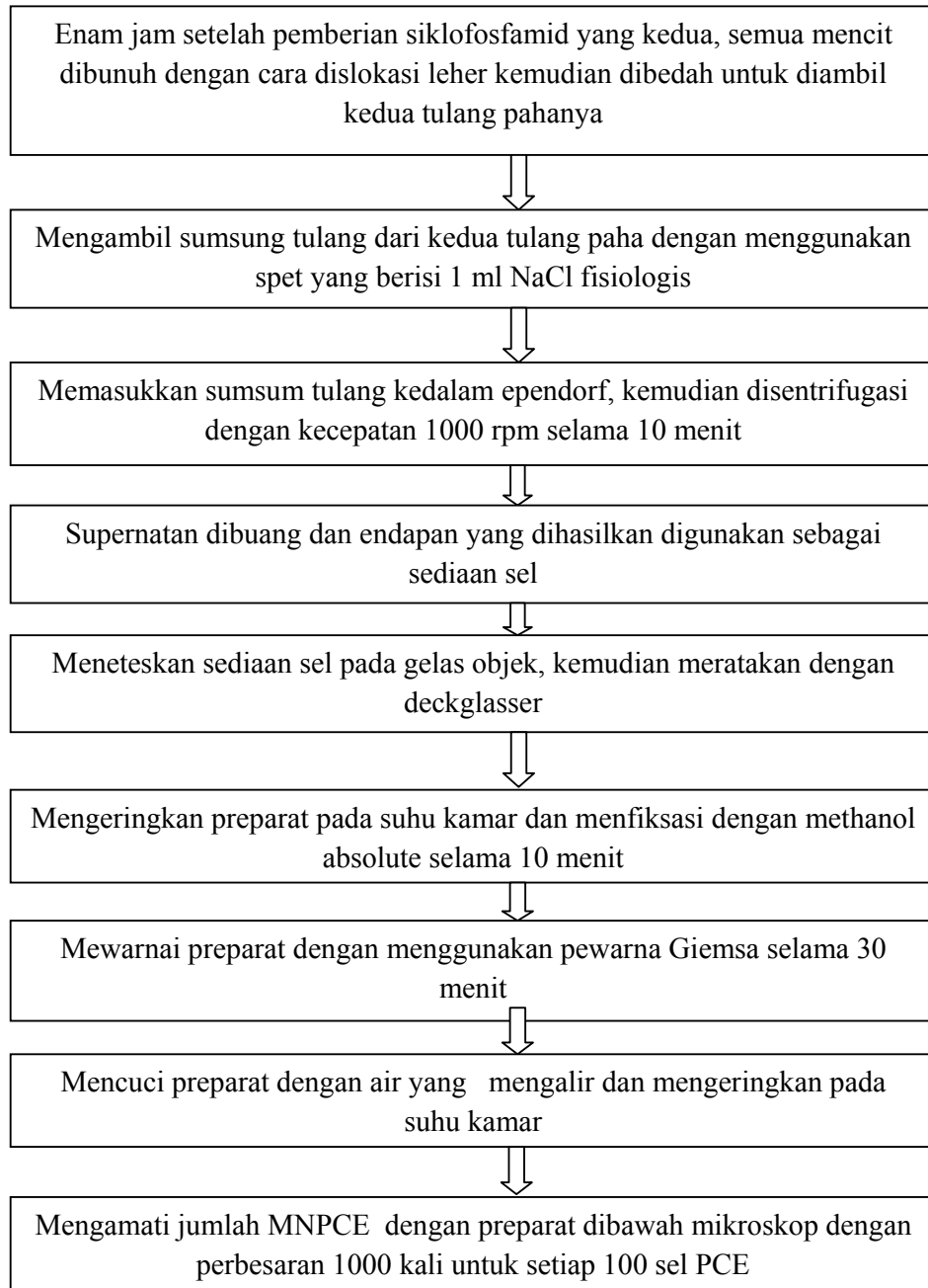
$$\frac{35gr}{1000gr} \times 600mg = 21 mg$$

Apabila stok larutan ekstrak metanol rimpang temu giring dalam larutan Na-CMC yang tersedia adalah 1%, maka ekstrak yang diberikan secara *peroral* pada mencit adalah:

$$\frac{21 mg}{1000mg} \times 100ml = 2,1 ml$$

LAMPIRAN II

Pembuatan Preparat Apus Sumsung Tulang Mencit



LAMPIRAN III

Berat Badan Mencit dan Banyaknya Bahan Uji yang Diberikan

Perlakuan	BahanUji	BB (g)	V (mL)
Kelompok I	Na-CMC 1% 50 mg/kg bb	33,2	0,17
		34,2	0,17
		36,8	0,18
Kelompok II	Lar S 50 mg/kg Bb	35,6	0,18
		31,6	0,16
		36,7	0,18
Kelompok III	Eks TG 600 mg/kg bb	36,1	2,17
		33,5	2,1
		35,1	2,2
Kelompok IV	Eks TG 300 Mg/kg bb + Lar S 50 mg/kg bb	36,6	1,1* & 0,18**
		37,4	1,2* & 0,18**
		36,0	1,1* & 0,18**
Kelompok V	Eks TG 600 Mg/kg bb + Lar S 50 mg/kg bb	34,8	2,1* & 0,17**
		37,9	2,3* & 0,18**
		34,2	2,1* & 0,18**

Keterangan :

BB : Berat badan mencit (g)

V : Volume bahan uji yang diberikan pada mencit(mL)

Lar S : Larutan siklofosfamid

Eks TG : Ekstrak methanol rimpang temugiring

* : Volume ekstrak metanol rimpang temugiring

** : Volume larutan siklofosfamid

LAMPIRAN IV

Jumlah MNPCE

Kelompok	Perlakuan	Replikasi	Jumlah MNPCE	Rerata jumlah MNPCE \pm Deviasi Standar
Kelompok I	Na-CMC 1 % 50 mg/kg bb	1	0	0
		2	0	
		3	0	
Kelompok II	Lar S 50 mg/kg bb	1	7	7,33 \pm 1,247
		2	6	
		3	9	
Kelompok III	Eks TG 600 mg/kg bb	1	0	0
		2	0	
		3	0	
Kelompok IV	Eks TG 300 mg/kg bb + Lar S 50 mg/kg bb	1	0	0,33 \pm 0,577
		2	0	
		3	1	
Kelompok V	Eks TG 600 mg/kg bb + Lar S 50 mg/kg bb	1	0	0,33 \pm 0,577
		2	0	
		3	1	

Keterangan :

Lar S : Larutans Siklofosfamid

Eks TG : Ekstrak metanol rimpang temu giring

LAMPIRAN V

Perhitungan Persentase Penurunan Frekuensi Jumlah MNPCE

Aktivitas antimutagenik ditunjukkan dengan persentase penurunan jumlah MNPCE pada masing-masing dosis ekstrak. Persentase aktivitas antimutagenik ekstrak metanol rimpang temugiring dihitung dengan menggunakan rumus sebagai berikut:

Persentase aktivitas

$$= \frac{\sum \text{MNPCE}_{\text{siklofosamid}} - (\sum \text{MNPCE}_{\text{sampel}} + \sum \text{MNPCE}_{\text{blanko}} + \sum \text{MNPCE}_{\text{kontrol}})}{\sum \text{MNPCE}_{\text{siklo}} - (\sum \text{MNPCE}_{\text{blanko}} + \sum \text{MNPCE}_{\text{kontrol}})} \times 100\%$$

Keterangan :

$\sum \text{MNPCE}_{\text{siklofosamid}}$: Rata-rata jumlah MNPCE kelompok kontrol positif

$\sum \text{MNPCE}_{\text{sampel}}$: Rata-rata jumlah MNPCE sampel

$\sum \text{MNPCE}_{\text{blanko}}$: Rata-rata jumlah MNPCE blanko

$\sum \text{MNPCE}_{\text{kontrol}}$: Rata-rata jumlah MNPCE kontrol

Berdasarkan hasil penelitian diatas, maka persentase penurunan jumlah MNPCE pada masing-masing dosis ekstrak adalah sebagai berikut:

1. Ekstrak metanol rimpang temu giring dosis 300 mg/kg bb

$$\frac{7,33 - (0,33 + 0 + 0)}{7,33 - (0 + 0)} \times 100\% = 95,5\%$$

2. Ekstrak metanol rimpang temu giring dosis 600 mg/kg bb

$$\frac{7,33 - (0,33 + 0 + 0)}{7,33 - (0 + 0)} \times 100\% = 95,5\%$$

LAMPIRAN VI
FOTO DOKUMENTASI



Gambar 1. Kelompok siklofosfamid



Gambar 2. Alat bedah



Gambar 3. NaCl fisiologis



Gambar 4. Pemberian ekstrak



Gambar 5. Spet



Gambar 6. Pemberian siklofosfamid



Gambar 7. Mencit



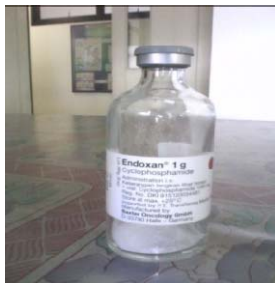
Gambar 8. Preparat apus



Gambar 9. Sentrifuse



Gambar 10. Akuades steril



Gambar 11. Siklofosfamid